



TITLE:

資料5 芳香族炭化水素の代謝と毒性発現に關与する脱水素酵素に關する研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

澤田, 英夫; 原, 明; 中山, 俊裕

CITATION:

澤田, 英夫 ...[et al]. 資料5 芳香族炭化水素の代謝と毒性発現に關与する脱水素酵素に關する研究(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊長類研究所年報 1991, 21: 92-93

ISSUE DATE:

1991-09-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164197>

RIGHT:

成功度に応じて連合形成のパターンを変えているのではないことを示している。このパターンはむしろ成体雄の順位と年齢に対応しており、最優位雄は雌を loser-support することが多いのに対し、その他の比較的若い雄は雌を support する頻度が高かった。しかし、これらの雄の中でも高順位個体は成熟に従い雌への support を増加させた。

資料 4 :

霊長類水晶体におけるガングリオシド

小木曾学 (東邦大・医・生理)

斉藤伸行 (東邦大・医・眼科)

酸性スフィンゴ糖脂質であるガングリオシドは主として脳神経組織に多く存在し、その機能が神経伝達に関与していると予想される。また他の組織では細胞間の認識、情報伝達、分化等に関わっている。外胚葉性組織である水晶体は、その特異な分化、成長様式とともに細胞膜に富む組織である。我々は現在までに、ヒトおよびアカゲザル水晶体では、加齢に伴いガングリオシド含量が増加することを報告し、さらにその分子種組成には高い相同性があることを見出している。興味あることには、神経組織に一般的に見られるガングリオ系列と言われる糖鎖構造ではない分子種が存在することが示唆された。そこで、その合成系を知る上で前駆体である中性糖脂質について検討を行なった。その結果、最終産物としてフコースを含む糖脂質へと至る合成経路がヒト水晶体に存在し、同様の経路の存在がアカゲザル、ニホンザルにも免疫学的に同定された。しかし、ラット、マウスにはその存在が認められず、糖脂質の発現と進化との関連において大変興味深い。血球の細胞膜では血液型物質を形成する糖鎖抗原に、同様な進化と密接に関連する抗原が存在することが報告されている。血球ではその発現が新世界ザルと旧世界ザル、ヒトへの分岐点で変化したとされている。また、ラットの水晶体で血球抗原として報告された糖鎖構造が同定できたことより、同様の進化との関連が水晶体スフィンゴ糖脂質にも存在すると思われる。

以上の知見より水晶体ガングリオシドにはこれらの中性糖脂質にシアル酸が付加したものが発現している可能性が高く、事実脱シアロ化したガングリオシドは上述の免疫学的な反応を示している。

現在、ヒト、サルでのガングリオシドの分離、精製が進み、間もなくその構造が解明されると思われる。

資料 5 :

芳香族炭化水素の代謝と毒性発現に関与する脱水素酵素に関する研究

澤田英夫・原 明・中山俊裕

(岐阜薬大・生化)

ジヒドロジオール脱水素酵素は芳香族炭化水素の発癌性代謝物の1種であるジヒドロジオール誘導体の代謝酵素として注目されている。ヒトおよびサル肝の本酵素は3 α -あるいは3(20) α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素と同定されており、異物および生理的物質のいずれをも代謝することができる。他の動物由来の類似酵素との異同を明らかにするためにも本酵素の構造を明らかにする必要がある、その第一段階として本年度はその活性発現に関与するアミノ酸残基を明らかにする目的で化学修飾剤による活性の阻害と基質あるいは補酵素類縁体による保護効果を調べた。

精製サル肝3(20) α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素を求核性残基を有するリジン、ヒスチジン、システインなどの特異的修飾剤であるジェチルピロカーボネート (DEP) と反応させると擬一次的に活性が低下し、その速度はDEPの濃度に依存していた。また、DEPの結合数は酵素1分子に対し、1個であると算出された。この修飾により活性低下は本酵素の補酵素であるNADPで強く保護された。また、2', 5'-ADPで強く保護されたが、ニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) やNADではほとんど保護されず、この結果からおそらく補酵素のアデノシン部位の2'-リン酸の結合に関与する求核性官能基が1個存在することが示唆された。また、リジン残基の特異的修飾剤である2, 4, 6-トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) とのインキュベーションでも、DEPと同様にTNBSの濃度に依存して活性低下がみられその反応速度は擬一次反応に従い、結合数は酵素1分子当たり約1個であった。補酵素類による保護効果は、NMNがNADPと同程度の作用を示し、2', 5'-ADPよりも強く保護した点でDEPの場合と異なっていた。その他、5'-AMP, 5'-ADP, 5'-ADP-riboseも保護作用

を示し、このことから、補酵素 NADP のアデノシンの 5'-リン酸基の結合に関与するアミノ基の存在が示唆された。これら DEP および TNBS による活性低下はいずれも基質であるインダノールでは全く保護されなかった。他にアミノ基に特異的なピリドキサルリン酸-AMP でも TNBS と同様な結果が得られた。

資料 6 :

霊長類における ABO 式血液型活性糖鎖構造の組織化学的解析—進化に伴う糖鎖構造の推移について—

伊藤信彰 (奈良医大)

前年度では血液型 ABH 抗原の局在を各種霊長類の脾臓、顎下腺等で比較した。今回はさらに抗 A₁モノクローナル抗体や, Le^a, Le^b, Le^x, Le^y 抗原に対するモノクローナル抗体を用い, それら抗原の局在を旧世界ザル, 新世界ザル, および原猿類の数種の唾液腺について, 比較検討した。

A₁ 抗原は, 用いたいずれの種類のア型の個体にもみられた。その抗原は, 通常の A 抗原と同様にダクトの細胞に主としてみられたが, 粘液細胞にもみられる場合があった。細胞内では, A₁ 抗原は主として核周辺のゴルジ領域に強く発現されている場合が多くあった。Le^a, および Le^b 抗原は, 旧世界ザルの仲間のダクトの細胞にのみみられ, その他の種類においては, それら抗原はほとんどみられなかった。一方 Le^x および Le^y 抗原は, いずれの仲間においても, ダクトや粘液細胞に比較的強く発現されていた。また漿液腺細胞に反応性がみられる場合もあった。以上のように, 旧世界ザル以下の霊長類では, 一般的に言って, ヒトに比較し, 一型糖鎖の発現が弱く, 二型糖鎖の発現が優性であることが推定された。今後糖質分解酵素処理等の方法を併用することにより, この点をさらに明確にする必要がある。

電顕レベルでは, 主として核ヘテロクロマチン領域における血液型関連抗原の局在についてのデータを集積しつつある。すなわち, 検討する個体数や, 臓器組織の種類をふやして, 核における血液型関連抗原の存在を, 一般的現象として確立し, 将来は, その存在の意義についても明確にしていきたいと考えている。

資料 7 :

網膜における色情報抽出神経回路の免疫組織化学的研究

大塚輝彌 (生理研・神経情報)

最近, ヒト網膜の杆体および錐体視細胞の外節に含まれる視物質オプシンの一次構造が全解読された。そこでアミノ酸配列が明らかになったオプシンの一部を合成し, これを抗原としてマウスを用いてポリクローナル抗体を作製した。さらに得られた数種の抗体を用いて, これまで解析が極めて困難であった霊長類網膜の錐体視細胞を免疫組織化学的に調べた。

実験には主にニホンザル網膜の新鮮標本を使用し, 赤/緑と青錐体オプシンを認識する抗体を用いて錐体視細胞外節の免疫反応性を調べた。さらに魚類からヒトまで, 異なる種の網膜を比較解剖学的に解析し, 錐体視物質の進化過程を明らかにする研究を行なった。

得られた数種の抗体の中で青錐体オプシンの一部を認識する抗体にのみ, 免疫反応性に種差があった。これまでの顕微分光學と細胞内記録の研究成果から, 赤及び緑錐体の吸収極大は, 魚類から鳥類と動物が高等になるに伴って短波長側に移動することが良く知られている。一方, 青錐体の吸収極大値には種による差が無い。ところが今回の結果では, ヒト, サルから両生類までの青錐体外節が同一の抗体で標識されたにも関わらず, 魚類の青錐体のみは免疫反応性を示さなかった。

さらにこれらの知見をもとに, 新しく開発した電顕-免疫組織化学法を用いて, 錐体視細胞と 2 次ニューロン間のシナプス結合の定量的な解析を行なっている。これまでヒトをはじめ霊長類の網膜における色情報抽出の神経機構に関しては, 細胞内記録など直接的な生理学的研究が極めて困難であったため, 下等脊椎動物の知見から類推されてきた。しかし, 本研究では視物質の抗体を用いて霊長類網膜の 3 種の錐体視細胞と 2 次ニューロン間の神経回路を直接解析する研究方法を確立した。

資料 8 :

霊長類の犬歯形態にみられる性分化と種間差

山田博之 (愛知学院大・歯)